

2) We have found that pigments were separated into several groups by the capillary analysis and that the displacement ratio in this occasion had close relationship with the migration distance in the apparatus of paper-electrophoresis.

3) We have investigated the relation of groups of pigments and their functional radicals with the migrating direction, and found the fact that the decrement of the migration velocity of these pigments was approximately similar to the logarithmic decrement at each definite interval.

文 献

- (1) 坂本, 斉藤 : 農化誌投稿中 (第 2 報)
- (2) 坂本, 斉藤 : 農化誌投稿中 (第 4 報)
- (3) 坂本, 川崎 : 本紀要, 7, 23 (1956)
- (4) 坂本, 川崎 : 本紀要, 7, 34 (1956)
- (5) 坂本, 楯岡 : *Bull. Agr. Chem. Soc. Jap.*, 20, 98 (1956)
- (6) 坂本, 楯岡 : 農化, 30, 463 (1956)
- (7) 坂本, 斉藤 : *Bull. Agr. Chem. Soc. Jap.*, 1, (1958)
- (8) 坂本, 斉藤 : 農化誌投稿中 (第 5 報)
- (9) 坂本, 楯岡 : 本紀要, 6, 34 (1955)
- (10) 坂本, 斉藤 : 農化誌投稿中 (第 6 報)

ped on the center of filterpaper (C) auramine, $a'/a=0.74$, dropped on the point at the distance of 10 cm in the anodic side from the center of filterpaper (D) indigo carmine, $a'/a=0.80$, dropped on the point at the distance of 10 cm in the cathodic side from the center of filterpaper (E) orange II, $a'/a=0.91$, dropped on the point at the distance of 10 cm in the cathodic side from the center of filterpaper, 1.5~1.8 cm, 7V/cm, in citrate buffer of pH 3.6

の種類によつて a'/a に相当差がある。従つてアミノ酸、血清蛋白に於いてなしたと同様に、32 種類の色素全体に共通の a'/a を適用してその泳動距離を算出することは不可能である。そこで吾々は次の如く前記色素の A、B、C、D、E 各群毎に夫々の a'/a を求めてそれにより泳動距離を算出したのである。即ち前記色素のうち G 群に属するものは別とし、又泳動速度の遅い F 群の色素を除いて A、B、C、D、E 群に属する色素から夫々 brilliant blue FCF, naphthol yellow S, auramine, indigo carmine, orange II の 5 色素をえらび出し (1)、(2) 式を用いて泳動距離を算出した。 $t=1$ 時間とし MD_1' は実験によつて求め、この時同時に実測値によつて滴下位置—泳動距離グラフを作成し図上より静止点迄の距離 MD_s' を求め (2) より a'/a を求めてこれより 2、3 時間における MD' を算出した。その値と実測値とを比較した結果が Fig. VI であるがこれによつても明らかな様に、各色素の a'/a に差が見られるが、色素の該緩衝液中の泳動においても (1)、(2) 式の適用が可能でその泳動速度が近似的に對数減衰していることがわかる。

総 括

- 1) 色素の水平型濾紙電気泳動装置内の泳動距離を検討した。
- 2) 色素類を毛管分析により数群に分離することが出来、この際の移動率が水平型電気泳動装置内の泳動距離に極めて密接に關聯のあることを知つた。
- 3) 色素系及びその官能基と泳動方向の關係を調べると共に、之等の色素の泳動速度が時間的に對数減衰に近似した減速を示すことを知つた。

稿を終るに臨み九州大学大島康義教授、船津勝助教授に対し厚く感謝の意を表する次第である。又試料の御供与並びに御教示を載いた三栄化学工業株式会社神原秀三郎氏に対し厚く感謝の意を表する次第である。なお本稿内容については、現在農化誌に投稿中⁽¹⁰⁾であり、昭和 33 年 5 月日本農芸化学会総会に報告することを附記しておく。

SUMMARY

- 1) We studied on the migration distance of pigments in the apparatus of paper-electrophoresis fixed with the filterpaper held horizontal and with the evaporation from the paper strips being admitted.

Fig. IV

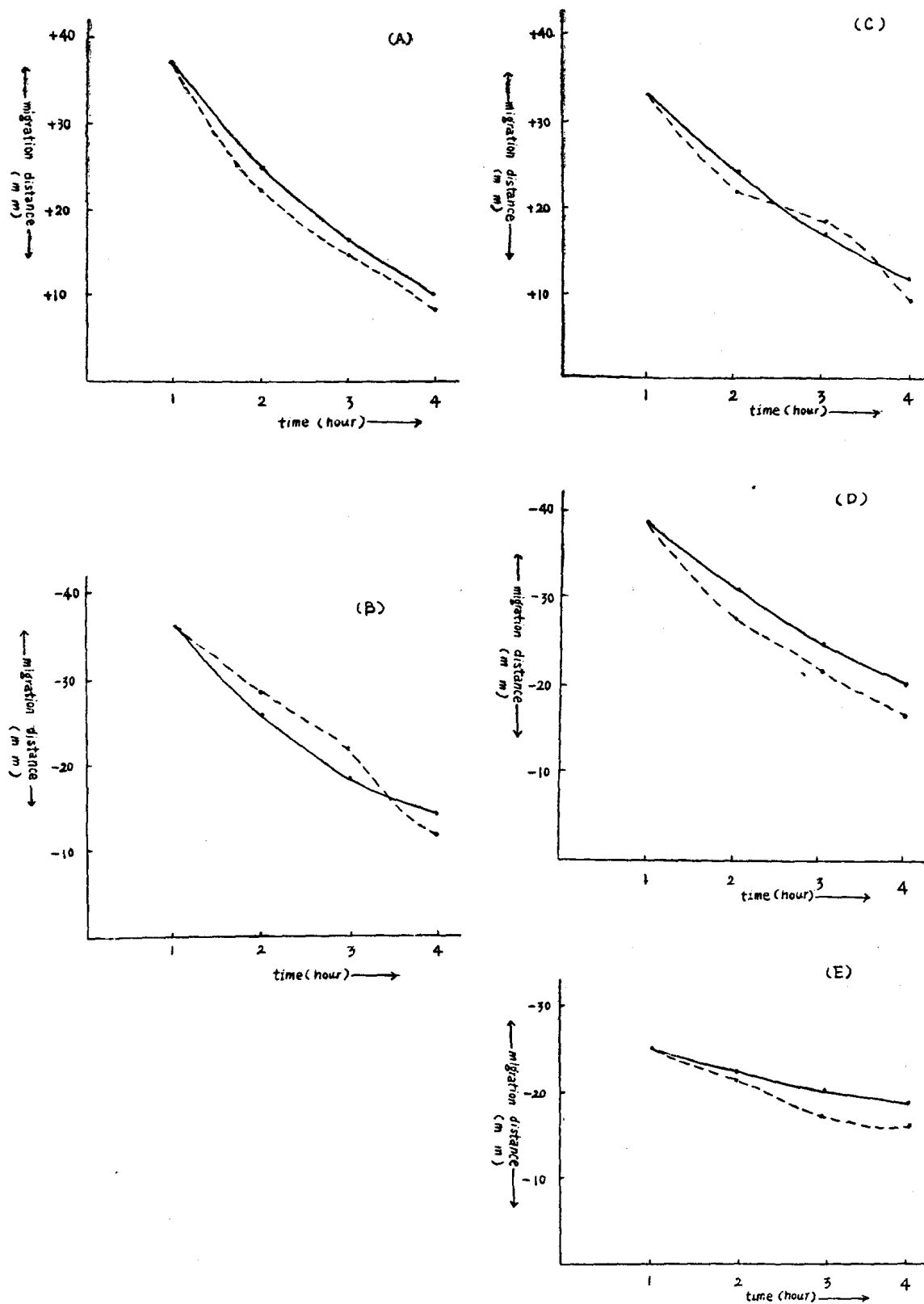


Fig. VI Curves of migration velocity (mm/hour) of pigments as the function of time, (A) brilliant blue FCF, $a'/a=0.65$, dropped on the point at the distance of 10 cm in the anodic side from the center of filterpaper (B) naphthol yellow S, $a'/a=0.72$, drop-

かではあるが陽極側に泳動する。

(iii) azo 系 sulfon 酸誘導体で phenol 性 OH を持つ new coccin, orange G, tartrazine, sunset yellow FCF, amaranth, orange II はいずれも陽極側に泳動する。又同じ azo 系 sulfon 酸で第3級 amine の methyl orange も陽極側に泳動する。

(iv) indigo 系 sulfon 酸塩である indigo carmine は陽極側に泳動する。

(v) nitro 系 sulfon 酸である naphthol yellow S は陽極側に泳動する。

(vi) anthraquinon 系 sulfon 酸塩で phenol 性 OH を持つ alizarin red S は陽極側に泳動する。

(vii) 次の amine 色素はA群に属せず中央滴下の際陰極側に移動するので泳動方向が厳密に確定出来ないが、いずれも上記 (i)~(vi) の色素群に比し遙かに陰極側に分離する。

a) triphenyl methene 系 amine: malachite green, fuchsin, methyl violet, crystal violet, gentian violet

b) diphenyl methane 系 amine: auramine

c) thiazine 系 amine: methylen blue

d) azine 系 amine: neutral red

e) azo 系 amine: chrysoidine

(viii) 次の色素はいずれも濾紙上の原点より移動しない。

a) dis azo 系 amine: congo red, bismark brown

b) azo 系 naphthyl amine: yellow AB

c) alkyl 基 ($-\text{CH}_3$) を有する azo 系 sulfon 酸: ponceau R

d) halogen (I, Cl) を有する triphenyl methane 系 phenol 酸塩: rose bengale

以上の如く化学構造系、官能基の差により系統的な泳動が見られ、此等色素の該緩衝液中における解離基の状態の一端を窺うことが出来る。

前報で吾々はアミノ酸、^(1,3)血清蛋白質^(2,3)の泳動速度の解析を行い、次の式が成立することを述べた。

$$MD' = MD_1' \cdot \frac{(a'/a)^n - 1}{a'/a - 1} \dots\dots\dots (1)$$

$$MD_s' = \frac{-MD_1'}{a'/a - 1} \dots\dots\dots (2)$$

(1)、(2) 式で MD' は泳動物質の滴下原点からの t 時間後における泳動距離、 MD_1' は単位時間 t_1 後における滴下原点よりの泳動距離、 a'/a は t_1 時間区分における泳動物質の泳動速度減衰率、 $n=t/t_1$ を示し、 MD_s' は滴下原点より泳動物質の濾紙上における静止点迄の距離をあらわす。(1)、(2) 式により明らかな様に、 MD' 、 MD_s' 算出には各泳動物質の a'/a が共通でなければならない。しかし今回の実験では Fig. IV, Fig. V から明らかな様に同一泳動過程においても色素

AR: auramine, MG: malachite green, RH: rhodamine, ARS: alizarin red S, OG: orange G, SYS: sunset yellow S, TZ: tartrazine, 1.7 mA/cm (III) D group, UR: uranine, MO: methyl orange, IC: indigo carmine, AM: amaranth, 1.7 mA/cm (IV) E group, FC: fuccin, CS: chrysoidine, MV: methyl violet, MB: methylen blue, OII: orange. II, 1.5 mA/cm (V) F group, NR: neutral red, EO: eosine (VI) G group, CR: congo red, PR: ponceau R, RB: rose bengale, YAB: yellow AB, BMB: bismark brown, 1.6 mA/cm, 1 hour, 7V/cm, in citrate buffer of pH 3.6

置一泳動距離グラフをB, C, D, E, F, G 夫々各色素群別について示したものである。

この図で各群の色素の直線グラフが互に殆んど平行している事実は前述の各群中の色素のR値が0~0.06程度の僅かな差であることと深い関係を持つと思われる。これは条件が異つても毛管分析の際の毛管浸透と、泳動中のジュール熱による毛管浸透の間の密接な関係を示すものとして興味深い。幸に既に報告した^(1,2,3,4,5,6) アミノ酸、血清蛋白質では、いづれもデキストランを含め互いに平行した滴下位置一泳動距離グラフを示したので、吾々は之等に関して多くの泳動速度の解析を行うことが出来た。しかるに色素について見ると前述の如く滴下位置一泳動距離グラフがデキストラン、アミノ酸のそれと平行するのは只4種だけで、その上各色素同志で毛管浸透の影響の度合に多くの差があるので、任意の数色素を濾紙上の任意の位置に滴下し任意時間泳動を行つて、その結果得られた相対的な分離位置から泳動速度の遅速、帯電状態を判断することは全く危険であり実際問題としても極めて注意を要することとなる。この様な理由で水平型装置中でデキストランを同時に滴下して原点補正を行い得るものは極めて限られたものとなり、現在迄吾々の報告した物質ではアミノ酸、^(1,3,4) 血清蛋白^(2,3,4) の他色素類では第1表A群に属する4色素で、B~G群に属する28種の色素には、この補正法は適用出来ない。しかも今のところ吾々はこのB~G群に属する色素については蒸発を許す水平型装置内で泳動を行う限り確実な泳動距離を判定する手段を見出すことが出来ない。しかし電気浸透の影響を考え合せる時、濾紙の中央点に滴下した物質が少しでも陽極側に移動しているならば、一応陽極側に泳動したものと解釈出来る。この様な考えの下に、Fig. IV, Fig. V に現われた結果を各色素の系統、官能基の上から分類すると次の如くなる。

(i) triphenyl methane 系の sulfon 酸塩である brilliant blue FCF, guinea green, azure blue VX, acid violet 6B はいずれも陽極側に泳動する。同じく triphenyl methane 系の sulfon 酸誘導体で phenol 性 OH を有する brom phenol blue, 又 sulfon 基を持たず phenol 性 OH のみを有する uranine も同様陽極側へ泳動する。

(ii) triphenyl methane 系 carbon 酸で phenolate である eosine, 同じく triphenyl methane 系 carbon 酸で第3級 amine の rhodamine はいずれも僅

Fig. IV Relationship between migration distance and dropped points of pigments, dex: dextran, gly: glycine, AB: azure blue VX, BB: brilliant blue FCF, AV: acid violet 6B, GG: guinea green, RH: rhodamine, BPB: brom phenol blue, CV: chrystal violet, IC: indigo carmine, EO: eosine, PR: ponceau R, (I) 1 hour, 1.6 mA/cm, (II) 2 hours, 1.6 mA/cm, (III) 3 hours, 1.8 mA/cm, in citrate buffer, 7V/cm

Fig. V

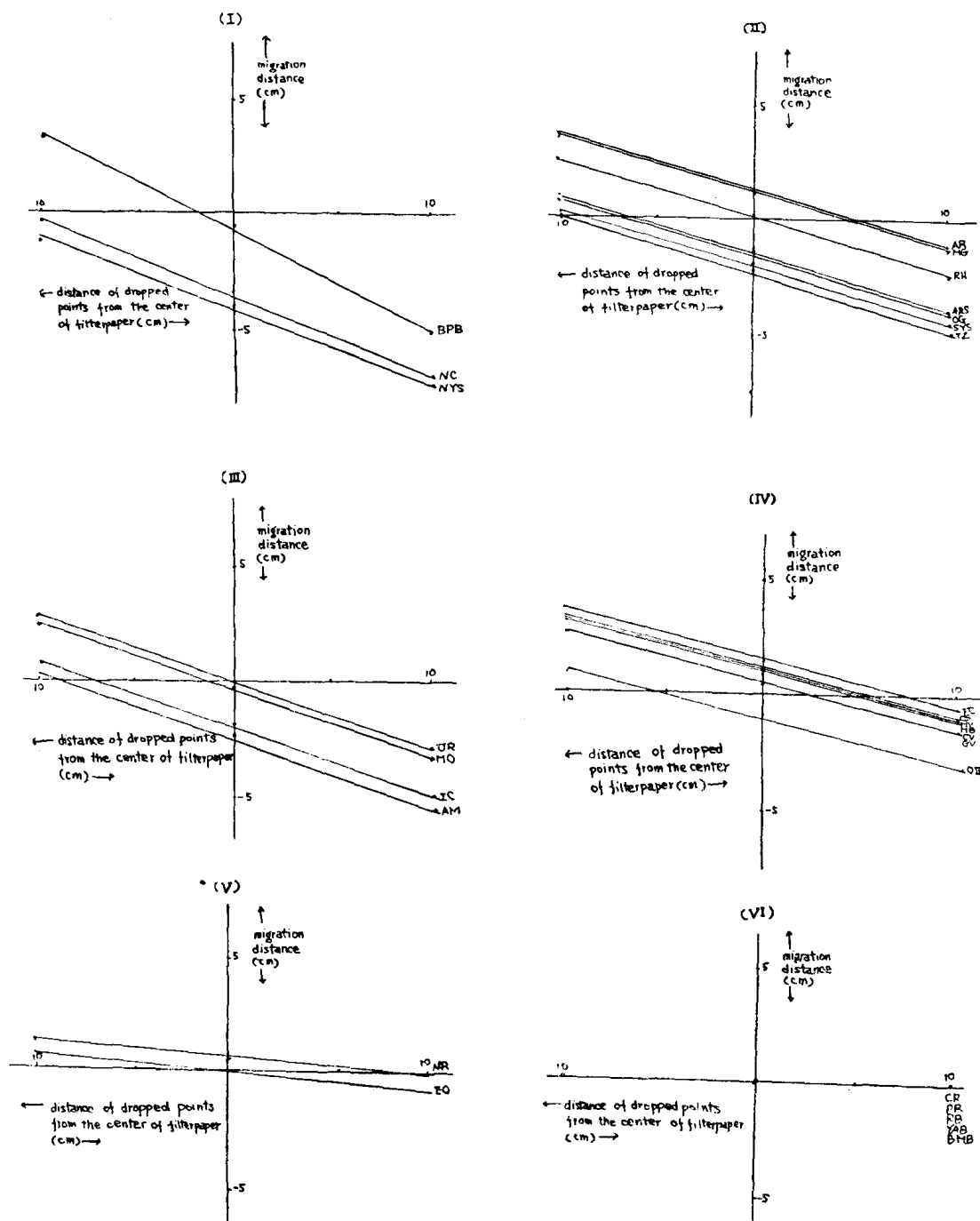
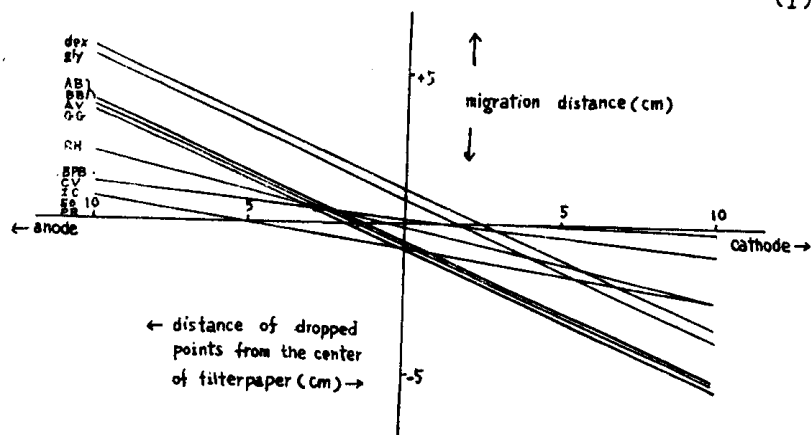


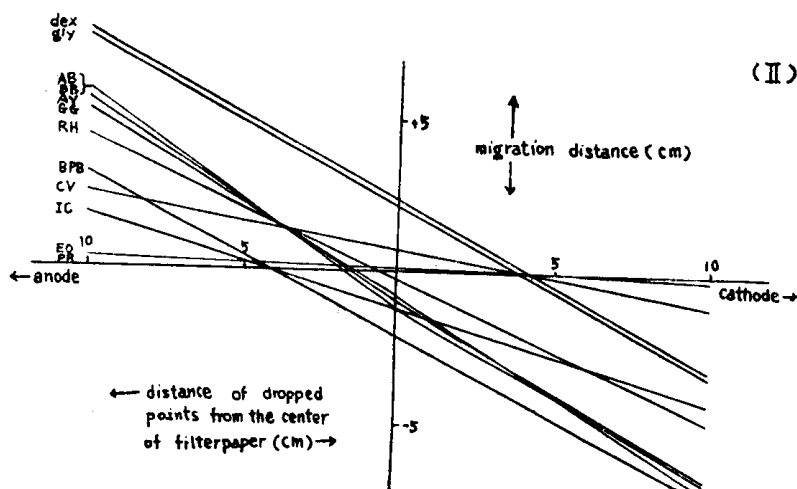
Fig. V Relationship between migration distance and dropped points of pigments, (I) B group, BPB: brom phenol blue, NC: new coccin, NYS: naphthol yellow S, 1.6 mA/cm, (II) C group,

Fig. IV

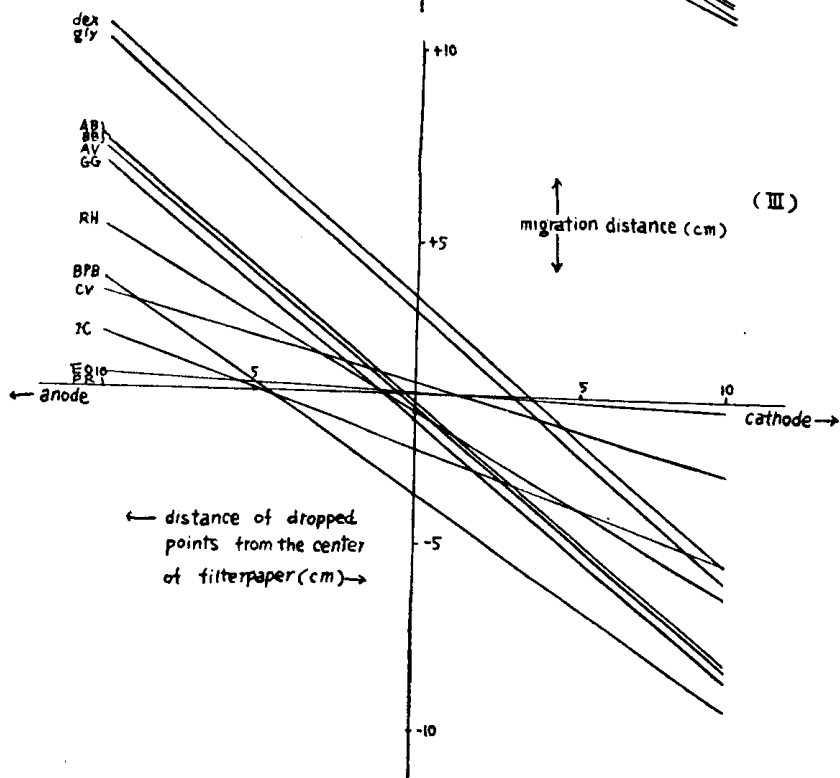
(I)



(II)



(III)



pigment	R-value	group
methyl orange	29	D
methylen blue	29	D
uranine	28	D
indigo carmine	26	D
amaranth	25	D
chrysoidine	18	E
methylen violet	18	E
fuchsin	15	E
chrystal violet	15	E
gentian violet	15	E
orange II	15	E
neutral red	9	F
eosine	6	F
ponceau R	2	G
congo red	0	G
yellow AB	0	G
bismark brown	0	G
rose bengal	0	G

Table. I R values of pigments in capillary analysis, in citrate buffer of pH 3.6, 100 min

0.02 を G 群と名付け、Fig. III はこの各群の中の 2 種類づつをえらんで図示した。R 値の大小と色素の関係について見ると、R 値最大の A 群がいずれも triphenyl methane 系の sulfon 酸塩である他、特別な関係は見出せないが、既に泳動距離について詳しく検討して来たアミノ酸、デキストランと同一の R 値を持つものが之等数多くの色素中僅か 2～4 種類であることは重要である。この場合の R 値は乾燥した濾紙に緩衝液が浸透する結果生ずる値であつて、泳動の際におけるジュール熱による湿潤濾紙への毛管浸透の影響と同一視出来ないが、両者の間に極めて密接な関係があり、この群別がひいては MG 値に大きな影響を持つことについては次項で触れたいと思う。

(2) 色素の泳動距離

32 種類の色素及びグリシン、デキストラン各溶液を Fig. I に示した装置の濾紙 (2×40cm) の中央点ならびに陽極側、陰極側各 10 cm の各点に滴下し、1, 2, 3 時間泳動させた結果を Fig. IV に示した。既に吾々はアミノ酸、血清蛋白質の滴下位置—泳動距離グラフが同一泳動過程でデキストランのそれと常に平行することを述べたが、この図からわかる様に色素でこれと平行するものは brilliant blue FCF, guinea green, azure blue VX, acid violet 6B の 4 種類のみで、しかも此等はいずれも前項で述べた R 値による分類法の A 群の色素である。Fig. IV にはこの他 6 種の色素のグラフを掲げたが、之は R 値分類による B, C, D, E, F, G 各群中の一種ずつの色素をえらんだもので、これにより R 値の大小がそのまま直線グラフの横軸となす角度の大小となつていくことがわかる。Fig. V は更に滴下位

Fig. III

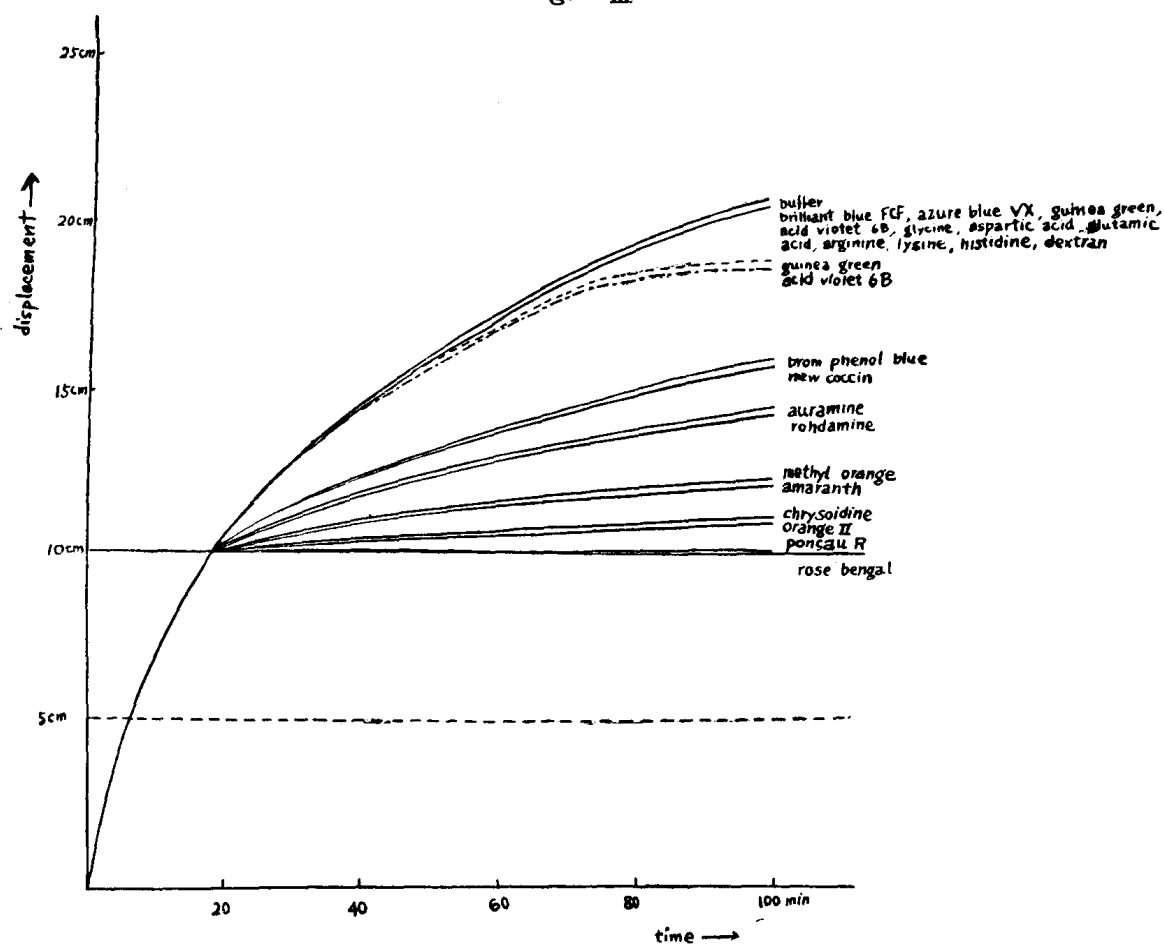


Fig. III Capillary analysis of pigments in citrate buffer of pH 3.6,
28°C, 88 % R. H

Table I

pigment	R-value	group
brilliant blue FCF	100	A
azure blue VX	100	A
guinea green	80 ~ 100	A
acid violet 6B	77 ~ 100	A
brom phenol blue	55	B
new coccin	50	B
naphthol yellow S	49	B
malachite green	42	C
sunset yellow FCF	41	C
auramine	40	C
tartrazine	40	C
alizarin red S	40	C
orange G	39	C
rohdamine	38	C

点の中心を標準としたが、一部濾紙に吸着し長く尾を引いて移動したものではその先端の濃厚部分の中心を標準とした。尚毛管分析の装置並びに方法については次項で述べる。

II. 実験結果並びに考察

(1) 毛管分析

既報^(1,2,3,4,5,6)で述べたように水平型濾紙電気泳動装置内で泳動を行う際は、ジュール熱発生により濾紙面からの蒸発が盛に行われ、これにともなつて起る濾紙両端よりの緩衝液の毛管浸透の為に物質の泳動速度は著るしく影響を受ける。この毛管浸透の影響を検討する一手段として、吾々は使用緩衝液による上記色素の毛管分析を行つてみた。装置は Fig. II に示す如きもので、東洋濾紙 No. 50, 2×40 cm を装置し、原点に色素溶液各 1/1000cc (1 部 1/20cc), アミノ酸溶液各 1/1000cc, デキストラン溶液 1/200cc を滴下し緩衝液を浸透させつつ 100 分間にわたり 10 分毎に緩衝液の浸透前線の位置並びに各物質の移動位置を測定した。Fig. III はこの結果を図示したものである。

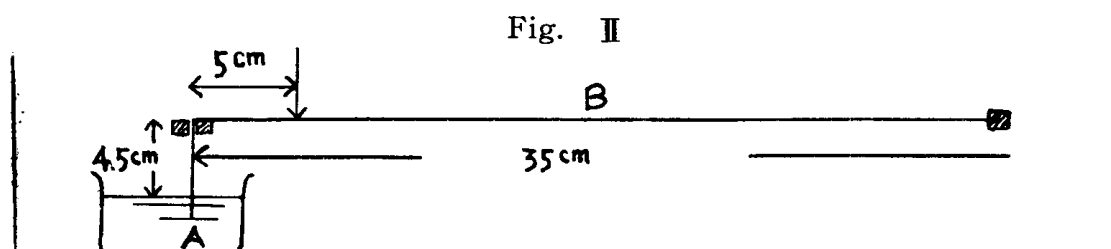


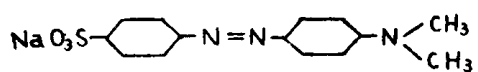
Fig. II Apparatus of capillary analysis, A) buffer solution
B) filterpaper

この図に見られる様に緩衝液の浸透速度曲線は大体 2 次曲線の形をとるが注目すべきことは、最後迄緩衝液浸透前線と同一の移動型式を示すものは、アミノ酸、デキストラン及び色素類としては brilliant blue FCF, azure blue VX の 2 種類のみで、他の 30 種類の色素はいずれも緩衝液浸透前線より遅れ、中でも congo red, ponsau R, rose bengale, yellow AB, bismark brown は原点より全然移動しない。guinea green, acid violet 6B は最初緩衝液と共に移動するがある点に達すると著るしくその速度を減ずる。この際 2 色素とも濾紙への吸着が著るしく長く尾を引いて進むので、滴下量を増し 1% 溶液 1/20cc とすると図の如く 100 分間緩衝液と共に移動する。使用した色素は 32 種類にのぼりこれを全部 Fig. III に図示し得ないので、緩衝液浸透後 100 分における色素の移動率 R を次の如く定め、この値を Table. I に示した。

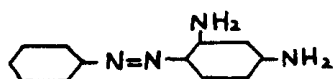
$$R = \frac{\text{色素の滴下原点よりの移動距離}}{\text{緩衝液の色素の滴下原点よりの浸透距離}}$$

Table. I の群別の項に記した A, B, C, D, E, F, G は之等色素を R 値の大小によつて便宜的に群別した符号である。即ち R 値 1.00 を A 群, 0.49~0.55 を B 群, 0.38~0.42 を C 群, 0.25~0.29 を D 群, 0.15~0.18 を E 群, 0.06~0.09 を F 群, 0~

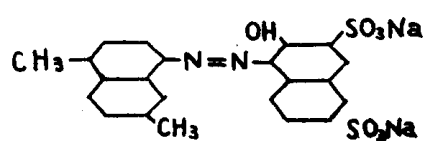
methylorange



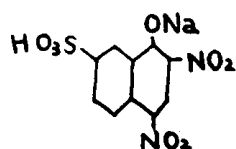
chrysoidine



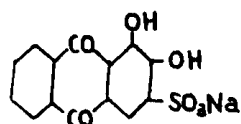
ponsau R



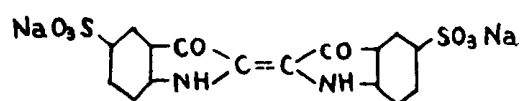
naphthol yellow S



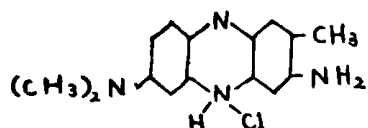
alizarin red S



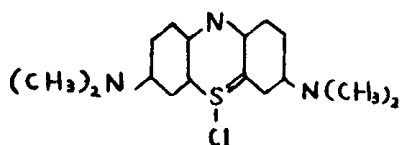
indigo carmine



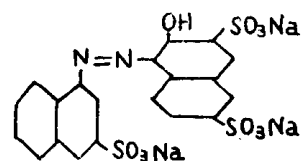
neutral red



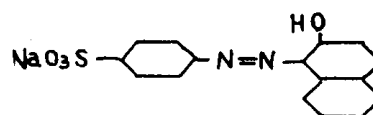
methylen blue



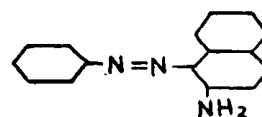
amaranth



orange II

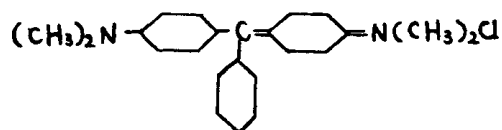


yellow AB

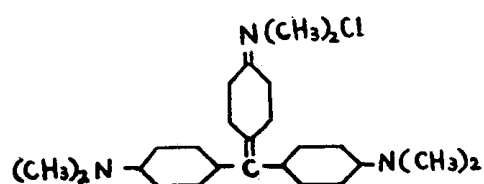


構造式 (III)

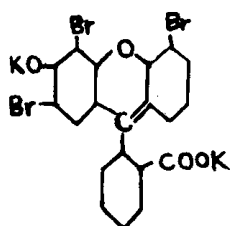
crystal violet



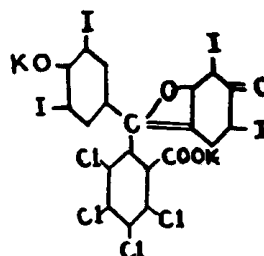
gentian violet



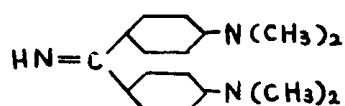
eosine



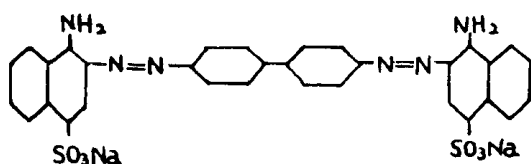
rose bengale



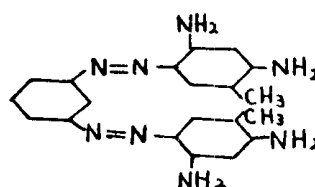
auramine



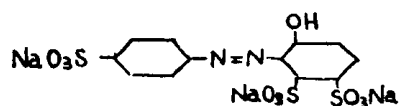
congo red



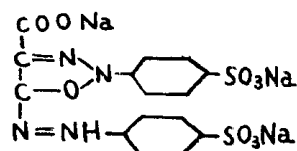
bismark brown



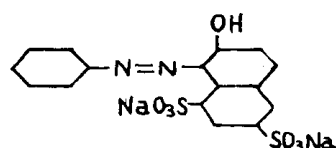
new coccin



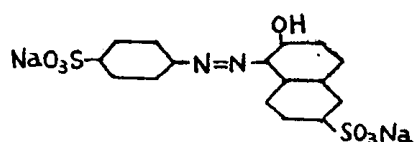
tartrazine



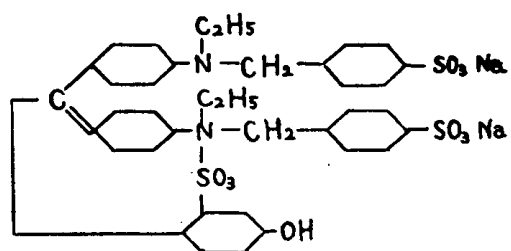
orange G



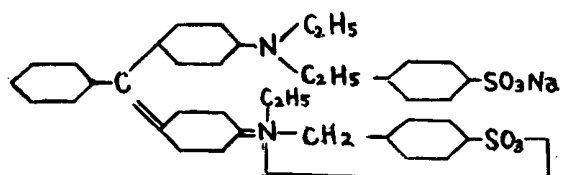
sunset yellow FCF



brilliant blue FCF

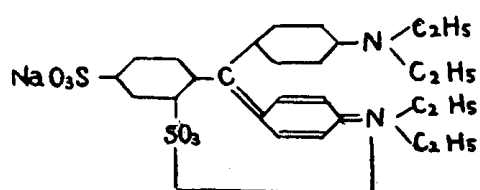


guinear green

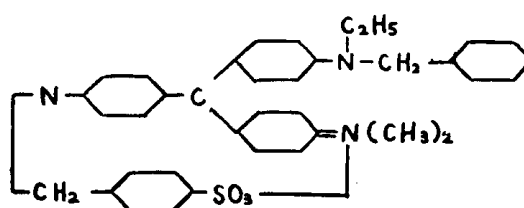


構造式
(I)

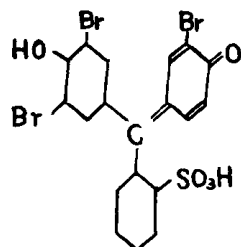
azure blue VX



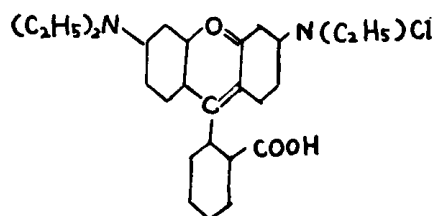
acid violet 6B



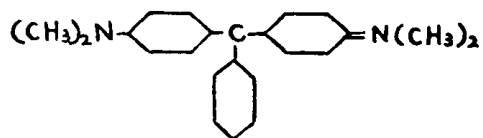
brom phenol blue



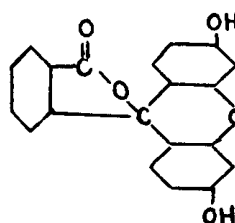
rohdamine



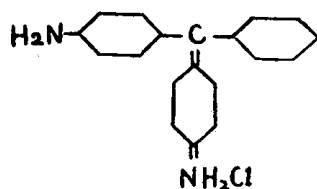
malachite green



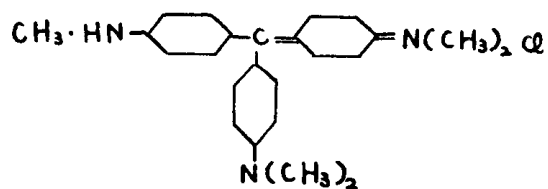
uranine



fuchsin



methyl violet



gentian violet, eosine, rose bengale (食用赤色 105 号)

(ii) diphenyl methane 系色素

auramine

(iii) dis azo 系色素

congo red, bismark brown

(iv) azo 系色素

new coccin (食用赤色 102 号), tartrazine (食用黄色 4 号), orange G, sunset yellow FCF (食用黄色 5 号), methyl orange, amaranth (食用赤色 2 号), chrysoidine, orange II, ponceau R (食用赤色 101 号), yellow AB (食用黄色 2 号)

(v) nitro 系色素

naphthol yellow S

(vi) anthraquinon 系色素

alizarin red S

(vii) indigo 系色素

indigo carmine

(viii) azine 系色素

neutral red

(ix) thiazine 系色素

methylen blue (構造式 (I), (II), (III) 参照)

又毛管分析用にアミノ酸のアルギニン、リジン、ヒスチジン、グリシン、グルタミン酸、アスパラギン酸の各 1 % 水溶液並びにデキストラン 2 % 水溶液を用いた。

(2) 緩衝液は pH 3.6 Mc Ilvaine クエン酸緩衝液を用いた。

(3) 使用装置は Fig. I に示す水平型濾紙電気泳動装置を用いた。濾紙は東洋濾紙 No 50, 2×35cm, 2×40cm を使用した。

Fig. I

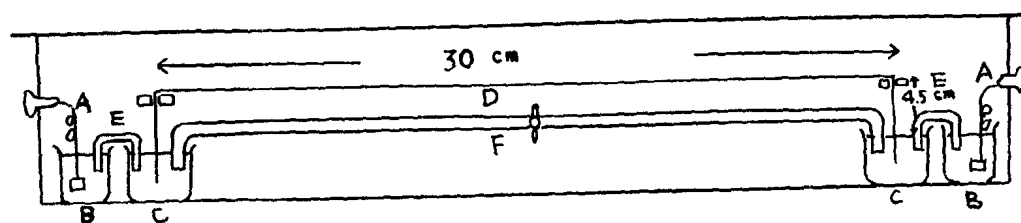


Fig. I Apparatus, A) electrodes B) KCl solution C) buffer solution D) filterpaper E) agar bridge

(4) 泳動法は濾紙両端より緩衝液が浸透会合して少くとも 1 時間以上経過後、20 分間使用電流を通じた後、試料を滴下、水蒸気を飽和し直ちに泳動を開始した。泳動は恒電圧の下で行い、水蒸気飽和は 30 分毎に行つた。電流値は 10 分おきにアンメーターを読みその算術平均をとつた。泳動距離の測定に当つては原則として斑

濾紙電気泳動法における泳動 距離について (第 6 報)*

色素類の泳動距離の検討 (その 1)

坂 本 清
齊 藤 絹 子

鹿児島県立大学短期大学部栄養化学教室

On the Migration Distance in Paper-electrophoresis (Part. 6): Studies on the Migration Distance of Pigments (1)

Kiyoshi SAKAMOTO & Kinuko SAITO

*Faculty of Junior Course,
Laboratory of Nutrition,
Kagoshima Prefectural University*

前報^(1,2,3,4,5,6)において、吾々は水平型濾紙電気泳動装置内でアミノ酸並びに血清蛋白質の泳動速度が時間的に対数減衰に極めて近似した減速を示す事実を述べ、相互の分離相対距離比 MG 値は多くの泳動条件の影響を受けない恒数となることを報告した。その後このような事実が他の物質にも見られるかどうかを検討する為、今回は食用色素を含む数十数の色素類について、毛管吸着分析を併用して実験を行つたところ、此等の泳動距離、MG 値について更に新しい知見が得られたので報告する。

実 験 の 部

I. 試料、緩衝液、装置並びに実験法

(1) 色素液として食用色素を含む次の 32 種類の夫々 1% 水溶液 (1 部アルコール溶液) を用いた。

(i) triphenyl methane 系色素

brilliant blue FCF (食用青色 1 号), guinea green (食用緑色 1 号), azure blue VX (食用青色 101 号), acid violet 6B (食用紫色 1 号), brom phenol blue, rohdamine, malachite green, uranine, fuchsin, methyl violet, chrystal violet,

* 吾々が本紀要にこれまで報告して来た一連の濾紙電気泳動の実験に関する論文の標題を、今後上記の如き主標題の下に統一して続けたいと思う。